Aus den Instituten für Tierphysiologie und Ernährungsphysiologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstände: Prof. DDr. DDr. h.c. Johannes Brüggemann
Prof. Dr. Dr. Jürgen Tiews

Untersuchungen zur Resorption von L-Leucin in verschiedenen Dünndarmabschnitten der Ratte in Abhängigkeit von der Ernährung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Wilfrid Herrmann
aus Zangenstein

München 1971

1972

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546015_0099

Aus den Instituten für Tierphysiologie und Ernährungsphysiologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstände: Prof. DDr. DDr. h.c. Johannes Brüggemann
Prof. Dr. Dr. Jürgen Tiews

Untersuchungen zur Resorption von L-Leucin in verschiedenen Dünndarmabschnitten der Ratte in Abhängigkeit von der Ernährung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Wilfrid Herrmann
aus Zangenstein

München 1971

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen

Fakultät der Universität München

Dekan:	Prof. Dr. J. Boessneck
Referent:	Prof. DDr. DDr.h.c. J. Brüggemann
Koreferent:	Univ. Doz. Dr. A. Petter

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der Promotion: 11. Februar 1972

Meiner lieben Mutter

G L I E D E R U N G

		Seite
A	Einleitung	1
B	Literaturteil	2
	1) Der aktive intestinale Aminosäurentransport	2
	2) Abhängigkeit des aktiven intestinalen Aminosäurentransports von der Aminosäurenkonzentration des Inkubationsmediums	5
	3) Fütterungsbedingte Veränderungen des intestinalen Aminosäurentransports	6
	4) Wechselbeziehungen zwischen Aminosäuren- und Monosacharidtransport	8
	5) Aminosäurenresorption in verschiedenen Darmabschnitten	8
	a) in vivo Untersuchungen	8
	b) in vitro Untersuchungen	9
C	Eigene Untersuchungen	11
	1) Methodik	11
	a) Tiermaterial	11
	b) Fütterung	11
	c) Diäten	11
	d) in vitro Untersuchungen	14
	e) Inkubationsmedien	15
	f) Versuchskriterien	16
	g) Radioaktivitätsmessung	17
	h) Statistik	17
	2) Versuchsbeschreibung und Versuchsergebnisse	18
	a) 1. Versuch	18
	b) 2. Versuch	23
	c) 3. Versuch	30
D	Diskussion der Ergebnisse	36
E	Zusammenfassung	38
F	Literaturverzeichnis	40

A. EINLEITUNG

Proteinreiche Ernährung führt bei der Ratte zu einer Stimulierung der intestinalen Aminosäurenresorption. Dies konnte in einer Serie von Versuchen, die am hiesigen Institut durchgeführt wurden, sowohl unter in vivo als auch unter in vitro-Bedingungen nachgewiesen werden (1, 2, 3, 4).

Im Rahmen dieser Untersuchungen sollte in der vorliegenden Arbeit geklärt werden, ob proteinreiche Ernährung bei der Ratte die Aminosäurenresorption in verschiedenen Dünndarmabschnitten unterschiedlich beeinflußt. Ferner wurde an isolierten Dünndarmabschnitten proteinreich sowie kohlehydratreich vorgefütterter Ratten geprüft, welche Abhängigkeit jeweils zwischen der Aminosäurenkonzentration des Inkubationsmediums und dem Aminosäurentransport besteht.

B. LITERATURTEIL

1.) Der aktive intestinale Aminosäurentransport.

Etwa bis zum Jahre 1950 war man der Auffassung, daß Aminosäuren durch passive Diffusion aus dem Darmlumen resorbiert werden. Erste Anhaltspunkte für eine nicht ausschließlich auf passiver Diffusion beruhende Passage von Aminosäuren aus dem Darmlumen in das muköse Bindegewebe ergaben sich jedoch schon in früher angestellten Untersuchungen von Höber und Höber (5), sowie von Lathe (6). Jedoch erst im Jahre 1951 gelang Gibson und Wiseman (7) an einer in vivo - Präparation definitiv der Nachweis, daß für die L- Isomeren der in der Natur vorkommenden Aminosäuren spezifische intestinale Transportmechanismen existieren. Aus einem Gemisch von D- und L- Aminosäuren, eingebracht in Ileumsegmente narkotisierter Ratten, wurde die L- Form vom Darmepithel schneller aufgenommen als ihre entsprechende D- Form. Erst kürzlich konnten Reiser und Christiansen (8) sogar an isolierten Epithelzellen des Rattendünndarms Analoges zeigen. Ausgedehnte Studien über den intestinalen Aminosäurentransport wurden erst im Jahre 1954 nach der Entwicklung der " everted sac technic " als in vitro-Präparation durch Wilson und Wiseman (9) ermöglicht. So konnten Wiseman (10, 11) und andere Autoren (12, 13, 14, 15) den Nachweis erbringen, daß die L- Formen einer ganzen Reihe von Aminosäuren aktiv, also gegen ein Konzentrationsgefälle transportiert werden. Für die D- Isomeren trifft dies nur eingeschränkt zu.

Nachdem schon im Jahre 1926 von Cori (16) ein kompetitives Verhalten von Glycin und D, L- Alanin während der Resorption nachgewiesen wurde, konnte auch von Wiseman (10) an evertierten Darmsäcken gezeigt werden, daß sich Monoaminomonokarbonsäuren beim Transport vom mukösen ins seröse Medium gegenseitig behindern. Ähnliche Wechselbeziehungen traten zwischen Diaminomonokarbonsäuren und Monoaminomonokarbonsäuren nicht auf. Deshalb postulierte Wiseman ein für neutrale

Aminosäuren gemeinsames Transportsystem, was später durch Befunde anderer Autoren erhärtet wurde (13, 17-25). Die Existenz eines aktiven Transportsystems für basische Aminosäuren wurde 1961 von Hagihira (26) aufgezeigt. Eine Beeinträchtigung des Transports neutraler Aminosäuren durch basische Aminosäuren war in diesen Untersuchungen nicht nachweisbar. Jedoch wurde eine Hemmung des Lysintransports durch Arginin hervorgerufen. Robinson und Felber (27, 28) wiesen auf die Tatsache hin, daß neutrale Aminosäuren in höherer Konzentration stimulierend auf den intestinalen Lysin- und Arginintransport einwirken. Munck und Schulz (29) verweisen ebenfalls auf Wechselbeziehungen zwischen neutralen und basischen Aminosäuren beim intestinalen Transport.

Wie bereits oben beschrieben, ist der aktive intestinale Aminosäurentransport von der stereochemischen Konfiguration der Aminosäuren in erheblichem Maße abhängig. Daneben kann unter anderem das Fehlen des α-ständigen H-Atoms oder die Substituierung des α-ständigen H-Atoms durch Methyl- oder Phenylgruppen eine wesentliche Einschränkung des aktiven intestinalen Aminosäurentransports bedingen (30 - 32).

Veränderungen an der NH_2-Gruppe aktiv resorbierter Aminosäuren führen ebenfalls zu einer Verminderung oder Aufhebung der Transportaktivität (30, 33 - 36).

Nach Lin et al. (33) ist eine freie COOH-Gruppe für den aktiven intestinalen Aminosäurentransport wahrscheinlich essentiell. Hayyar und Curran kamen zu ähnlichen Ergebnissen (37).

Der Position der Aminogruppe kommt nach Spencer et al.(38) gleichfalls eine Bedeutung für die Transporteigenschaften von Aminosäuren zu.

Die Affinität entsprechender Aminosäuren zum Transportsystem der neutralen Aminosäuren hängt unter anderem vom Vorhandensein einer positiven oder negativen Ladung an deren Seitenkette ab. So werden die basischen Aminosäuren Lysin, Ornithin, Arginin und Cystein, deren Seitenkette bei einem pH von 7,4 eine positive Ladung aufweist, von diesem Transportsystem nicht gegen ein Konzentrationsgefälle transportiert (26). Zunehmende Seitenkettenlänge neutraler Aminosäuren führt zu einer erhöhten Affinität dieser Aminosäuren zu ihrem Transportsystem (19, 23, 24).

Wie Fridhandler und Quastel (39) 1955 beschrieben haben, können Aminosäuren in vitro nur unter aeroben Bedingungen aktiv resorbiert werden. Lediglich der fötale Darm behält nach Wilson und Lin (40) die Eigenschaft Aminosäuren aktiv zu transportieren auch unter anaeroben Verhältnissen. Pratt und Terner (41) berichten in Studien am Hühnerembryo, daß der l-Valintransport unter anaeroben Bedingungen kurz nach dem Schlupf noch 80 % der Rate des Transports unter aeroben Bedingungen erreichte; 10 Tage später war diese Rate auf 5 % abgesunken. Daß für den aktiven intestinalen Aminosäurentransport Sauerstoff essentiell ist, beweist auch der drastische Rückgang des Aminosäurentransports bei Anwesenheit von Stoffwechselinhibitoren im Inkubationsmedium (24, 42 - 44, 49). Vitamin B_6 Mangel führt bei Ratte und Hamster ebenfalls zu einer Störung der Aminosäurenresorption (42, 44). Dasselbe gilt für den Vitamin D- und Vitamin E-Mangel, sowie den Mangel an essentiellen Fettsäuren (45 - 47).

Der aktive intestinale Aminosäurentransport scheint in vitro nur in Anwesenheit von Natriumionen im Inkubationsmedium stattzufinden (48, 96). So wiesen Schultz et al. (49), sowie Curran et al. (50) am isolierten kurzgeschlossenen Kaninchenileum nach, daß für die Aufnahme von Aminosäuren aus dem Darmlumen in die Darmepithelzelle Natriumionen erforderlich sind. Die Natriumionen und Aminosäuremoleküle sollen sich dabei an separate Haftstellen eines gemeinsamen Carriers der Zellmembran anlagern. Der Natriumkonzentrationsgradient zwischen extra- und intrazellulärem Raum könnte dabei als Antrieb für den Bergauftransport von Aminosäuren dienen. Dieser elektrochemische Natriumgradient wird wahrscheinlich von einer in der serosaseitigen Membran des Epithels befindlichen Natriumpumpe aufrechterhalten.

Hajjar et al. (51) überprüften in ihren Untersuchungen am Kaninchenileum den Alanineflux aus Darmzellen in die muköse Flüssigkeit. Dabei stellten sie fest, daß die Darmzellen Alanin akkumulieren, wenn Natrium in den Zellen weniger stark konzentriert ist als im Inkubationsmedium. Übersteigt die Konzentration an Natrium in den Zellen die Natriumkonzentration des Inkubationsmediums, wird Alanin gegen ein Konzentrationsgefälle aus den Zellen ausgeschleust. Rubino et al. (52) schlossen aus ihren Studien am Kaninchenileum, daß Glycinprolin und auch ande-

re Dipeptide durch die Bürstensaummembran des Darmes von einem durch Natriumionen stimulierten, saturablen Mechanismus transportiert werden. Alvarado (53) postulierte sogar einen in der Bürstensaummembran lokalisierten polyfunktionellen Carrier für Zucker, neutrale und basische Aminosäuren sowie für Natriumionen. Der Carrier soll diese Substanzen reversibel an sich binden können. Der Austritt aus dem Darmepithel in die Lamina propria mucosae scheint dann hauptsächlich durch passive Diffusion zu erfolgen.

2.) Abhängigkeit des aktiven intestinalen Aminosäurentransports von der Aminosäurenkonzentration des Inkubationsmediums.

Formal befolgt der aktive intestinale Aminosäurentransport die Gesetze der Michaelis-Menten-Theorie (54 - 57). Bei Erhöhung der Aminosäurenkonzentration des Inkubationsmediums nimmt demnach die Transportrate gemäß der Funktion einer rechtwinkligen Hyperbel zu. Eine ähnliche Beziehung wurde auch unter in vivo-Bedingungen gefunden. Dies bedeutet, daß bei einer bestimmten Substratkonzentration einer Aminosäure der Aminosäurentransport einen Maximalwert erreicht ($V_{max.}$), der auch durch weitere Konzentrationserhöhung nicht mehr gesteigert werden kann. Somit läßt sich auch die Konzentration jeder einzelnen Aminosäure ermitteln, bei der für den Nettotransport der halbmaximale Wert zu verzeichnen ist. Nach der Michaelis-Menten-Theorie entspricht dieser Wert der Michaeliskonstanten K_m.

Trägt man in einem Diagramm den reziproken Wert der Aminosäurenkonzentration auf der X-Achse gegen den reziproken Wert des Aminosäurentransports auf der Y-Achse ein, entsteht eine Gerade, deren Schnittpunkt mit der Y-Achse den reziproken Wert des Maximaltransports $V_{max.}$ ergibt; aus dem Schnittpunkt mit der X-Achse läßt sich der negative reziproke Wert der Michaeliskonstanten K_m ablesen. Solche Beziehungen zwischen Aminosäurentransport und Substratkonzentration konnten für eine ganze Reihe von Aminosäuren nachgewiesen werden; so z.B. für DL-Histidin und Methionin von Jervis und Smyth (57), für Phenylalanin von Spencer und Samiy (56), für DL-Tryptophan, L-Phenylalanin, L-Isoleucin, L-Leucin, L-Valin, L-Tyrosin, L-Methionin, L-Histidin, DL-Prolin, L-Alanin, L-Glycin, L-Threonin, DL-Ornithin, L-Lysin und für L-Arginin von Larsen et al. (22).

Für Monoaminokarbonsäuren mit stark lipoidlöslichen Seitenketten (Isoleucin, Leucin, Valin, Methionin, Phenylalanin) ergaben sich außerdem in diesen Untersuchungen übereinstimmend niedrige K_m-Werte. Das heißt, diese Aminosäuren zeigten eine große Affinität zum entsprechenden Aminosäurentransportsystem.

In Kompetitionsstudien konnte nachgewiesen werden, daß sich neutrale Aminosäuren (11, 13-17, 19-21) und basische Aminosäuren (22, 26, 27, 58) beim Transport jeweils untereinander kompetitiv hemmen. Die Hemmwirkung einer Aminosäure auf den intestinalen Transport einer anderen Aminosäure, deckte sich im allgemeinen mit den theoretischen Werten, die aus den K_m-Werten der beiden Aminosäuren gemäß der Michaelis-Menten-Theorie errechnet wurden. In einzelnen Fällen ergaben sich jedoch große Differenzen. Deshalb ist nach Fisher (59) die Anwendung der Michaelis-Menten-Theorie bei der Beschreibung der Kinetik des aktiven intestinalen Aminosäurentransports nur mit Vorbehalt berechtigt, zumal die Maximaltransportraten ($V_{max.}$) von Aminosäuren, die sich beim Transport kompetitiv hemmen, erheblich differieren. Letzteres deutet darauf hin, daß der aktive intestinale Transport dieser Aminosäuren nicht jeweils dem gleichen geschwindigkeitsbegrenzenden Mechanismus zuzuordnen ist.

Reiser et al. (60) verglichen in neuesten Untersuchungen die kinetischen Charakteristika des intestinalen Valintransports bei zwei Tage alten sowie erwachsenen Ratten. Dabei wurde bei den Jungtieren eine größere Maximaltransportkapazität ($V_{max.}$) gefunden.

3.) Fütterungsbedingte Veränderungen des intestinalen Aminosäurentransports.

Fütterungsfaktoren können die Aminosäurenresorption wesentlich beeinflussen. So beobachteten Kershaw et al. (61) an umgestülpten Rattendünndarmsäcken nach drastischer Einschränkung des Verzehrs der Versuchstiere für 5 bzw. 9 Tage im Vergleich zu ad libitum gefütterten Kontrolltieren für L-Histidin und D-Glukose erheblich größere Konzentrationsgradienten zwischen dem serösen und mukösen Medium. Ergänzende in vivo-Untersuchungen erbrachten nach partiellem Futterentzug ebenfalls eine Beschleunigung der Histidin-und Glukoseaufnahme durch das Darm-

epithel. Für das Meerschweinchen gilt Analoges. Beim Hamster trat dieser Effekt nicht auf (62). Pérès et al. (63) stellten nach vollständigem Futterentzug bei der Ratte keine Veränderungen der Glycinresorption fest. Levin (64) jedoch beobachtete an umgestülpten Dünndarmsäcken von Ratten, denen 3 Tage lang das Futter entzogen wurde, einen Rückgang des Glycintransports. Madge (65) wiederum ermittelte an Meerschweinchen, die 2 Tage gefastet hatten, eine deutliche Steigerung des intestinalen L-Histidin-und D-Glukose-Transports. In vitro-Studien von Newey et al. (66) über Einflüsse des Fastens auf den Zucker- und Aminosäurentransport bei der Ratte ergaben, daß die Darmsäcke von vorher gefasteten Tieren, inkubiert in glukosefreien Medium, einen gesteigerten Transfer von Zuckern und Aminosäuren aufwiesen. Bei Anwesenheit von Glukose im Inkubationsmedium trat infolge des Fastens ein allgemeiner Rückgang des Wasser- und Aminosäurentransports auf. Vor allem letzteres steht im Widerspruch zu Befunden die an Darmsäcken normal ernährter Tiere bei Anwesenheit von Glukose im Inkubationsmedium erhoben wurden (74 - 77, 96, 99).

Donhoffer (67) untersuchte die Glycinresorption bei Ratten, welche zuvor an stärkereiches bzw. kaseinreiches Futter adaptiert worden waren. In Wasser gelöstes Glycin wurde in diesen Versuchen per Schlundsonde verabreicht und die Glycinresorption anhand der im Darm nach einer gewissen Zeit verbliebenen Glycinmenge beurteilt. Dabei nahm die Glycinmenge im Darmlumen bei den kaseinreich gefütterten Ratten schneller ab als bei den stärkereich ernährten Tieren. Lin und Wilson (13) wiederum konnten nach längerer Verfütterung einer tyrosinreichen Diät an evertierten Dünndarmsäcken von Ratten keine Steigerung des Tyrosintransports nachweisen.

Proteinfreie Fütterung oder die Verabreichung einer bezüglich der Proteinqualität biologisch minderwertigen Nahrung führt dagegen zu einer beschleunigten Aminosäurenresorption. Dies könnte auf die kalorische Unterversorgung zurückzuführen sein, da beide Diäten eine Verzehrsdepression bedingen (68 - 70).

4.) Wechselbeziehungen zwischen intestinalem Aminosäuren - und Monosaccharidtransport.

Bestimmte Monosaccharide können den aktiven intestinalen Aminosäurentransport hemmen (71, 72, 53). Umgekehrt inhibieren auch Aminosäuren den Monosaccharidtransport (72, 73, 74). Glukose dagegen ist nach Studien von Newey und Smyth (71), Bingham (75, 76), Reiser und Christiansen (77) kein Inhibitor des intestinalen Aminosäurentransports. Glukose kann sogar die durch Galaktose verursachte Hemmung des intestinalen Aminosäurentransports aufheben oder vermindern (77). Fruktose aktivierte nach Untersuchungen von Reiser und Christiansen (8) den intestinalen Aminosäurentransport; α - Methyl - D - Glukose und Galaktose erwiesen sich als Hemmer des Aminosäurentransports. Diese Ergebnisse basieren auf Untersuchungen über die Leucinaufnahme durch isolierte Dünndarmepithelzellen der Ratte.

5.) Aminosäurenresorption in verschiedenen Darmabschnitten.

Die Befunde zur Aminosäurenresorption in unterschiedlichen Darmabschnitten konnten bisher auf keinen gemeinsamen Nenner gebracht werden. Vor allem scheinen dabei Speziesunterschiede von Bedeutung zu sein.

a.) in vivo Befunde: In vivo-Befunde zur Aminosäurenresorption in verschiedenen Darmabschnitten wurden hauptsächlich am Menschen erhoben. So untersuchten Schedl et al. (78) mittels einer Perfusionsmethode die Methioninresorption in verschiedenen Dünndarmabschnitten. Der proximale Dünndarm wies unter diesen Umständen die größte Transportkapazität für Methionin auf. Nixon und Mawer (79) stellten 1970 Untersuchungen beim Menschen über die Verdauung und Resorption von Proteinen an. Ihre Ergebnisse zeigen, daß 70 bis 75 % einer Milchproteintestmahlzeit bereits im proximalen Dünndarm resorbiert werden. Weiterhin stellten diese Autoren fest, daß sich die Aminosäurenresorptionsrate proportional zum Proteingehalt der Mahlzeit verhält. Nach Borgström et al. (80) werden radioaktiv markierte menschliche Serumalbumine und Milchproteine zu 90 % hauptsächlich als freie Aminosäuren in den oberen 100 cm des menschlichen Jejunums resorbiert.

Weckesser et al. (81) wiesen nach, daß sowohl der proximale als auch der distale Dünndarm des Hundes zur Aminosäurenresorption befähigt ist. Kremen et al. (82), die Hunden 50 bis 60 % des oberen Dünndarms operativ entfernten, kamen zu analogen Folgerungen. Bei Resektion des größten Teils des Ileums war aber in diesen Studien eine deutliche Abnahme der Proteinverwertung zu verzeichnen. Normalerweise dürfte also jeder Abschnitt des Dünndarms zur Aminosäurenresorption befähigt sein. Diese Annahme wird auch dadurch unterstützt, daß nach Resektion des oberen oder unteren Dünndarms beim Menschen die Proteinverwertung nicht gestört ist (83, 94). Neil (12) schloß aus in vivo-Experimenten an der Ratte, daß für freies L-Cystein und L-Cystin der proximale Dünndarm die größte Resorptionskapazität besitzt. Parkins et al. (88) fanden bei der Ratte, daß J^{131}-markiertes Albumin, verabreicht durch eine Magensonde, zu einer meßbaren Radioaktivität in der Wand des 3. Dünndarmviertels führte. Der gemessene Höchstwert der Radioaktivität trat in der Zeit zwischen 10 und 30 Minuten nach Verabreichung der Testsubstanz auf. Im distalen Ileum konnte keine Radioaktivität mehr gemessen werden.

Mettrick (101) berichtet in in vivo-Experimenten an der Ratte über die Aufnahme von Proteinstickstoff in verschiedenen Dünndarmabschnitten nach Verabreichung einer Eialbumin- bzw. einer Caseindiät. Die Versuchstiere mußten 18 Stunden fasten und erhielten dann die entsprechende Testmahlzeit. Die Stickstoffverteilung wurde anschließend nach 1, 2, 3, 4 Stunden in 8 verschiedenen Dünndarmabschnitten (102) geprüft. Dabei stellte sich heraus, daß 4 Stunden nach Verfütterung der Caseindiät der Proteinstickstoff hauptsächlich im Duodenum aufzufinden war, gefolgt vom Jejunum und Ileum. Im Falle der Eialbumindiät wurden im Jejunum die höchsten Proteinstickstoffwerte erhalten.

b.) in vitro Befunde: In vitro-Befunde zur Aminosäurenresorption in unterschiedlichen Dünndarmabschnitten wurden hauptsächlich am isolierten Dünndarm von Labortieren erhoben. Die meisten Autoren sprechen dem distalen Jejunum die höchste Aminosäurentransportkapazität unter in vitro Bedingungen zu. Entsprechende Ergebnisse wurden für Tyrosin (13), Glycin, Alanin, Valin, Leucin, Aminoisobuttersäure (54), Tryptophan (84), und Phenylalanin (20) an umgestülpten Hamsterdünndarmsäcken erhalten. Bei der Ratte wurde für Leucin (22), Lysin (22), Valin und Glycin (58) Analoges gefunden. Matthews und Laster (23) sowie Cohen und Huang (84)

stimmen in der Meinung überein, daß sowohl beim Hamster als auch bei der Ratte neutrale Aminosäuren im distalen Jejunum am besten resorbiert werden. Monojodtyrosin wird in vitro nach Nathans et al. (32) im distalen Ileum, Cystein nach Neil (12) in vitro und in vivo im Duodenum maximal resorbiert. Cordero und Wilson (85) konnten im Hamstercolon keinen aktiven Transport für Tyrosin, Glukose, Galaktose und Vitamin B_{12} finden. An Mukosaringen des Rattencolons dagegen beobachteten Everet und Nunn (86) zwar eine gegen ein Konzentrationsgefälle erfolgende Akkumulation von Valin. Ein Bergauftransport in das seröse Kompartiment umgestülpter Colonsäcke ergab sich jedoch nicht. Neueste in vitro Studien von Blatt und Schachter (87) erbrachten eine gegen ein Konzentrationsgefälle erfolgende Prolinakkumulation nur in Colonringen von neugeborenen Ratten und Mäusen.

Wakita et al. (89) stellten in Versuchen am Küken fest, daß die Lysinakkumulation inkubierter Dünndarmsegmente im Jejunum am höchsten war, gefolgt vom Ileum, Duodenum, Colon, Rectum und Caecum. Die oberen Abschnitte des Jejunums akkumulierten Aminosäuren schneller als die mittleren und unteren Abschnitte. Die auf 100 mg Darmtrockengewicht bezogenen Akkumulation von Glutaminsäure in Darmsegmenten nahm mit fortschreitendem Alter der Küken zu; wurde die Akkumulation auf die Darmlänge bezogen, galt das Umgekehrte.

Eine genaue Definition der einzelnen Dünndarmabschnitte wird auf Seite 18 und 23 gegeben.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. Methodik

a.) Tiermaterial:

Als Versuchstiere dienten erwachsene männliche Sprague-Dawley-Ratten mit einem Durchschnittsgewicht von 200 bis 250 g. Lediglich für einen Versuch (s. S. 30) wurden schwerere Tiere verwendet. Die Tiere wurden in Einzelkäfigen gehalten; der Raum war Tag und Nacht beleuchtet. Die Raumtemperatur betrug 23 bis 24 Grad Celsius.

b.) Fütterung:

Die Ratten konnten Futter und Wasser ganztägig ad libitum aufnehmen. Die Verfütterung der Versuchsdiäten erstreckte sich in allen Versuchen auf 14 bis 20 Tage. Zur Bestimmung des Futterverzehrs wurden die Futternäpfe mit Futter ad 60 g aufgefüllt. Am nächsten Tag konnte dann durch Rückwägung der Tagesverzehr bestimmt werden. Die entsprechenden Durchschnittswerte sind unter den jeweiligen Versuchen angegeben. (Versuch 1, 2, 3). Als Futternäpfe wurden Plexiglasdosen mit einem Durchmesser von 8 cm verwendet. Ein aufschraubbarer Deckel, der zentral eine etwa 4 cm große runde Öffnung hatte, sowie ein direkt auf dem Futter liegendes rundes Blech, aus dem mehrere Löcher ausgestanzt waren, sollte ein Verstreuen des Futters verhindern.

c.) Diäten:

Nachdem die Tiere bei der Aufstallung jeweils in zwei verschiedene, etwa gewichtsgleiche Gruppen eingeteilt worden waren, erhielt die eine Tiergruppe eine proteinreiche Diät (HP), die Kontrollgruppe eine eiweißarme, kohlenhydratreiche Diät (NP). Beide Diäten waren nach Befunden von Nehring et al. (90) isokalorisch. Die umsetzbare Energie betrug 3,9 Kcal/g Diät.

Die Zusammensetzung der Diäten ist den folgenden Tabellen (Tab. 1, 2) zu entnehmen.

Tabelle 1

Zusammensetzung der Hochproteindiät (HP)

Säurekasein [1]	88,00
Maisstärke	2,00
Sojaöl	2,00
Zellulose	1,00
Mineralsalzmischung [2]	5,00
Vitaminmischung [3]	2,00
	100,00
Protein	73,50 %

1) mit 1 % DL- Methionin ergänzt
2) siehe Tabelle 3
3) siehe Tabelle 4

Tabelle 2

Zusammensetzung der Niedrigproteindiät (NP)

Säurekasein [1]	13,00
Maisstärke	75,67
Sojaöl	3,33
Zellulose	1,00
Mineralsalzmischung [2]	5,00
Vitaminmischung [3]	2,00
	100,00
Protein	11,00 %

1) mit 1 % DL- Methionin ergänzt
2) siehe Tabelle 3
3) siehe Tabelle 4

Tabelle 3

Mineralsalzzusatz pro kg Diät

$CaCO_3$	12,50 g
$Ca_3(PO_4)_2$	11,70 g
K_2HPO_4	8,35 g
NaCl	6,65 g
Na_2HPO_4	5,80 g
$MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$	4,16 g
Fe - Citrat	0,37 g
$MnSO_4 \cdot 4\ H_2O$	0,38 g
$ZnCO_3$	33,00 mg
$CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$	16,00 mg
KJ	33,00 mg
NaF	8,00 mg
	50,00 g

Tabelle 4

Vitaminzusatz pro kg Diät

Vitamin A	5000 I.E.
Vitamin D_3	1000 I.E.
Vitamin E	50 mg
Vitamin K_3	2 mg
Vitamin B_2	20 mg
Vitamin $B_1 \cdot HCl$	20 mg
Vitamin $B_6 \cdot HCl$	10 mg
Vitamin B_{12}	30 mcg
Ca-Panthotenat	50 mg
Nikotinsäure	50 mg
Cholinchlorid	2000 mg
Folsäure	2 mg
Biotin	200 mcg
Inositol	250 mg
Paraaminobenzoesäure	100 mg
Vitamin C	20 mg

d.) In vitro-Untersuchungen an evertierten Dünndarmsäcken.

Um die Aminosäurenresorption in vitro zu untersuchen, wurde die von Wilson und Wiseman (8) beschriebene "everted sac" Technik verwendet. Dabei wurde folgendermaßen vorgegangen: Den Ratten, die die jeweilige Versuchsdiät HP oder NP 14 bis 20 Tage erhalten hatten, wurde 12 Stunden vor der Tötung das Futter entzogen. Nach dieser Fastenperiode wurden die Tiere mit 0,6 ml Equi-Thesin pro 100 g Körpergewicht narkotisiert. (Das Equi-Thesin stammte von der Firma Jensen Salsbery Laboratories, Division of Richardsen-Merrel, Inc., Kansas City, Mo.). Nach rund 10 Minuten wurde die Bauchhöhle mittels einer Schere eröffnet, der jeweils zu untersuchende Darmabschnitt vorsichtig vom Gekröse freipräpariert und ein rund 15 cm langes Darmstück excidiert. In die Untersuchungen wurden das Duodenum, das proximale, mittlere und distale Jejunum sowie das Ileum einbezogen.

Nach Überführung des jeweiligen Darmabschnittes in eine Petrischale, die Krebs-Henseleit-Bikarbonatpuffer (91) enthielt, wurde ein dünner Plastikkatheder (Hundeharnkatheder Nr. 7) in das Darmstück eingeführt. Mit Hilfe einer Ligatur wurde ein Ende des Darmstücks an der Kathederspitze fixiert. Anschließend konnte nun der freie Darmteil über das fixierte Ende gestülpt werden, so daß die Mukosa auf der Außenseite und die Serosa auf der Innenseite des auf diese Weise umgewendeten Darmstücks zu liegen kam. Ein Ende wurde nun mittels Seide abligiert. Vom anderen Ende her wurde der Darmsack mittels einer mit Knopfkanüle versehenen Tuberkulinspritze mit 1 ml Inkubationsmedium (s.S. 15, Abschnitt e) gefüllt. Nun wurde auch dieses Darmende mit Seide abgebunden und die außerhalb der beiden Ligaturen verbliebenen Darmteile möglichst nahe an den Ligaturen abgesetzt.

Auf diese Weise entstand ein gefüllter Darmsack von etwa 8 cm Länge. Die Darmsäcke wurden anschließend in einen Erlenmayerkolben (100 ml) eingebracht, der 20 ml des Inkubationsmediums (siehe S. 15, Abschnitt e) enthielt. Nach einminütiger Begasung mit einem Co_2/O_2-Gemisch (5:95), wurde der Kolben mit einem Glasstöpsel verschlossen, in ein Wasserbad mit einer Temperatur von 37 Grad Celsius verbracht und 60 Minuten (in Versuch 3: 90 Minuten) geschüttelt. Nach Beendigung der Inkubation wurde der Darmsack an einem Ende mit einer Schere aufgeschnitten und die Flüssigkeit (seröses Medium) in einem bereit gestellten Glasschälchen

aufgefangen. Die Menge der serösen Flüssigkeit konnte auf diese Weise nach Inkubationsende durch Wiegen bestimmt werden. Diese Menge konnte unter unseren Versuchsbedingungen dem Volumen der serösen Flüssigkeit gleichgesetzt werden. Der entleerte Darmsack wurde nun zur Bestimmung des Trockengewichts auf Stanniolpapier bei 105 Grad Celsius bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. In Versuch 3 wurde das entleerte Darmstück nach Augenmaß in zwei Hälften geteilt, deren Naß-Gewicht bestimmt wurde. Der eine Teil diente zur Ermittlung des Trockengewichts; das andere Stück wurde in einen 50 ml Erlenmeyerkolben, welcher 20 ml Lithiumsulfatlösung (8 mM/l) enthielt, verbracht und 2 Tage lang bei 4 Grad Celsius (Kühlraum) extrahiert. Auf diese Weise konnte die Akkumulation von ^{14}C-markiertem L-Leucin in der Darmwand ermittelt werden.

e.) Inkubationsmedium

Als Inkubationsmedium diente Bikarbonatpuffer (pH 7,4) nach Krebs und Henseleit (91). Dieser Puffer enthielt in allen Untersuchungen ^{14}C-markiertes L-Leucin (0,5 µCi/100 ml). Das radioaktiv markierte L-Leucin stammte von der Firma "The Radiochemical Center, Amersham". Für Versuch1 und 2 betrug die L-Leucin-Konzentration im Inkubationsmedium jeweils 5 mM/l. In Versuch 3 wurde die L-Leucin-Konzentration variiert. (1, 3, 5, 10 mM/l). Zusätzlich wurden im ersten Versuch dem Inkubationsmedium 200 mg/100 ml · und im zweiten Versuch 300 mg/100 ml Inkubationslösung D-Glukose zugesetzt. Im dritten Versuch wurde auf die Zugabe von D-Glukose verzichtet.

Für die Herstellung des Krebs-Henseleit-Bikarbonatpuffers wurden die in Tabelle 5 angegebenen Stammlösungen verwendet.

Tabelle 5

Stammlösungen für die Herstellung des Bikarbonatpuffers nach Krebs und Henseleit (91).

1.) NaCl -Lösung	0,9 %ig	(0,154 M)
2.) KCl -Lösung	1,15 %ig	(0,154 M)
3.) $CaCl_2$-Lösung		(0,11 M)

5 ml dieser Lösung verbrauchen bei der Titration 11 ml einer 0,1 n $AgNO_3$-Lösung.

4.) KH_2PO_4-Lösung	2,11 %ig	(0,154 M)
5.) $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$-Lösung	3,82 %ig	(0,154 M)
6.) $NaHCO_3$-Lösung	1,3 %ig	(0,154 M)

Letztere ist eine Stunde lang mit CO_2 kräftig zu begasen.

Tabelle 6

Der Puffer besteht aus:

100 Teilen Lösung 1.)	4 Teilen Lösung 2.)
3 Teilen Lösung 3.)	1 Teil Lösung 4.)
1 Teil Lösung 5.)	21 Teilen Lösung 6.)

Vor dem Gebrauch ist die Pufferlösung 10 Minuten mit einem CO_2/O_2-Gemisch (5/95) zu begasen und anschließend mit konzentrierter HCl oder NaOH auf pH 7,4 einzustellen.

f.) Versuchskriterien

Zur Beurteilung des L-Leucin-Transports wurde die nach der Inkubation ermittelten L-Leucin-Konzentrationen des mukösen (M) und serösen (S) Mediums, sowie die Konzentrationsdifferenzen (S-M) und die Konzentrationsgradienten (S/M) zwischen serösen und mukösen Medium herangezogen. Als weiterer Parameter wurde der seröse L-Leucin-Transfer verwendet. Als seröser L-Leucin-Transfer wird die während der Inkubation im serösen Medium der Darmsäcke erfolgende Mengenzunahme an L-Leucin bezeichnet. In Versuch 3 wurde zusätzlich das in der Darmwand akkumulierte ^{14}C-L-Leucin bestimmt.

g.) Radioaktivitätsmessung

Nach Inkubationsende wurden jeweils 0,5 ml der mukösen bzw. der serösen Flüssigkeit mit 0,5 ml Perchlorsäure (0,6 M) enteiweißt. Anschließend wurde 15 Minuten bei 4000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. 0,5 ml des erhaltenen Zentrifugats wurden in ein Zählfläschchen, das 20 ml Bray - scintillator (93) enthielt, pipettiert. Die Aktivitätsmessung erfolgte in einem Tricarb-Liquid-Scintillationsspectrometer (Packard). Zur Ermittlung des in der Darmwand akkumulierten ^{14}C-L-Leucins wurde zu 18 ml Brayscintillator 2 ml des bereits vorher beschriebenen Lithiumsulfatextrakts pipettiert (s.S. 15). Zur Bestimmung des Löscheffekts dienten als innerer Standard 0,5 ml ^{14}C-markiertes Toluol. Da jedoch infolge der Enteiweißung der Proben dieser Effekt immer konstant war, konnte er bei der Berechnung der L-Leucin-Transportparameter außer acht gelassen werden. Ein chemischer Nachweis des L-Leucins war nicht erforderlich, da L-Leucin in der Darmwand nicht metabolisiert wird (2).

In der folgenden Tabelle ist die Zusammensetzung der Bray-Scintillatorlösung angegeben.

Tabelle 7

Zusammensetzung der Bray-Scintillatorlösung (99)

4 g PPO (2,5-Diphenyloxazol)
0,2 POPOP (1,4 bis 2-(4-Methyl, 5-Phenyloxazolyl)-Benzol)
60 g Naphthalin
100 ml abs. Methanol
20 ml Äthylenglykol
Dioxan ad 1000 ml

h.) Statistische Auswertung der Ergebnisse

In den Tabellen des Ergebnisteils sind die Versuchsergebnisse als Mittelwerte mit ihren Standardabweichungen angegeben. Unterschiede zwischen der Gruppe HP und der Gruppe NP wurden mit Hilfe des t-Tests nach Student (92) ausgewertet.

2.) Versuchsbeschreibung und Versuchsergebnisse

a.) Versuch 1

Versuchsziel: Wie aus dem Literaturteil entnommen werden kann (S. 8-10), weisen verschiedene Dünndarmabschnitte eine unterschiedliche Aminosäurentransportkapazität auf. Dabei wird im allgemeinen dem distalen Jejunum die höchste Transportkapazität zugeschrieben. Trotzdem scheint aber unter in vivo-Bedingungen nach der Aufnahme einer proteinreichen Mahlzeit der Großteil an Aminosäuren bereits im proximalen Dünndarm resorbiert zu werden. Aus diesen Gründen interessierte, wie sich längere proteinreiche Ernährung, die zu einer Stimulierung der Aminosäurenresorption führt, auf den Aminosäurentransport verschiedener Dünndarmabschnitte auswirkt. In dieser Versuchsserie wurden daher an umgestülpten Darmsäcken des proximalen, mittleren und distalen Jejunums von proteinreich (Gruppe HP) und proteinarm (Gruppe NP) vorgefütterten Ratten der intestinale Transport von L-Leucin untersucht. Als Jejunum wird dabei der Dünndarmabschnitt zwischen dem caudalen Ende des Ligamentum duodenocolicum und dem proximalen Ende des Ligamentum ileocaecale bezeichnet (104).

Versuchsanordnung: 30 männliche Sprague-Dawley-Ratten wurden in zwei Gruppen à 15 Tiere eingeteilt und ca. zwei Wochen lang entweder mit HP-Diät oder mit NP-Diät ad libitum gefüttert. Das Durchschnittsgewicht zu Versuchsbeginn betrug für die Gruppe HP 253 g, für die Gruppe NP 250 g. Der tägliche Futterverzehr lag im Durchschnitt bei 16,1 g für Gruppe HP sowie bei 16,9 g für Gruppe NP. Das für die in vitro-Experimente verwendete Inkubationsmedium enthielt 5 mM/l L-Leucin und 200 mg/100 ml D-Glukose. Die Inkubationszeit betrug 1 Stunde. Die gefüllten Darmsäcke wiesen eine Länge von 8 cm auf. Pro Tier wurde unter Equi-Thesin-Narkose jeweils ein ca. 10 cm langes Stück des proximalen Jejunums (distal vom Ligamentum duodenocolicum), des mittleren Jejunums sowie des distalen Jejunums (proximal vom Ligamentum ileocaecale) entnommen.

Versuchsergebnisse: In Tabelle 8 sind die Darmtrockengewichte und die Volumina des serösen Mediums nach beendigter Inkubation aufgeführt. Für das Darmtrockengewicht ergaben sich keine deutlichen Unterschiede zwischen Gruppe HP und NP.

Die Volumenzunahme des serösen Mediums während der Inkubation war in allen Fällen recht deutlich. Dies dürfte wahrscheinlich auf die Zugabe von Glukose ins Inkubationsmedium zurückzuführen sein, da von anderen Autoren (2, 74 - 76, 96, 99) gezeigt werden konnte, daß Glukose im Inkubationsmedium den Wassertransfer in das seröse Kompartiment der Darmsäcke stimuliert. Für die Volumina des serösen Mediums wurden bei den Darmsäcken des proximalen Jejunums für die Gruppe HP signifikant höhere Werte gefunden als für Gruppe NP.

In Tabelle 9 sind die einzelnen Parameter für den Leucintransport während der Inkubation angegeben. Die Ausgangskonzentration betrug, wie bereits erwähnt, 5 mM/l L-Leucin. Signifikante Unterschiede bezüglich der L-Leucinkonzentration im serösen Medium ergaben sich zwischen Gruppe HP und Gruppe NP im proximalen und mittleren Jejunum. Für das distale Jejunum trifft dies nicht zu.

Tabelle 8

Darmtrockengewichte und Volumen des serösen Mediums umgestülpter HP- und NP-Dünndarmsäcke (proximales, mittleres, distales Jejunum).

Inkubationsmedium: 5 mM/l L-Leucin + 200 mg/100 ml D-Glukose

	Darmtrockengewichte in mg		
	HP	(n=15)	NP
prox. Jej.	94,76±18,27		80,53±24,39
mittl. Jej.	91,43±10,74		93,49±15,11
dist. Jej.	81,54±19,29		77,64±17,46

	Volumen des serösen Mediums in ml[1]		
	HP	(n=15)	NP
prox. Jej.	1,42±0,24	p<0,001	1,16±0,16
mittl. Jej.	1,46±0,17		1,35±0,19
dist. Jej.	1,23±0,18		1,18±0,08

1) Zu Beginn der Inkubation betrug das Volumen des serösen Mediums 1 ml.

Tabelle 9

Leucinkonzentrationen des serösen und mukösen Mediums, sowie Leucinkonzentrationsdifferenzen (S-M) und Leucinkonzentrationsgradienten (S/M) zwischen serösem und mukösem Medium umgestülpter HP- und NP-Dünndarmsäcke nach beendigter Inkubation.

Inkubationsmedium: 5 mM/l L-Leucin + 200 mg/100 ml D-Glukose

	serös. Medium (S) mM/l (n=15)		muköses Medium (M) mM/l	
	HP	NP	HP	NP
prox. Jej.	12,32±4,19	8,58±2,94	4,29±0,57	4,74±0,59
	p<0,01		p<0,05	
mittl. Jej.	13,86±3,77	9,62±2,32	4,26±1,03	4,73±0,67
	p<0,001			
dist. Jej.	9,34±2,22	9,55±2,10	4,67±0,81	4,69±0,75

	(S-M) Konzentrationsdiff. mM/l (n=15)		(S/M) Konzentrationsgrad.	
	HP	NP	HP	NP
prox. Jej.	8,05±4,19	3,84±2,84	2,91±1,13	1,82±0,64
	p<0,01		p<0,01	
mittl. Jej.	9,61±3,80	4,90±2,20	3,47±1,23	2,24±0,62
	p<0,001		p<0,01	
dist. Jej.	4,68±2,73	4,86±2,37	2,15±0,79	2,09±0,59

Tabelle 10

Seröser Leucintransfer umgestülpter HP- und NP-Dünndarmsäcke (proximales, mittleres, distales Jejunum).

Inkubationsmedium: 5 mM/l L-Leucin + 200 mg/100 ml D-Glukose

Seröser Leucintransfer in µM/Darmsack

	HP	(n=15)	NP
prox. Jej.	12,32±6,07		4,97±3,74
		p<0,001	
mittl. Jej.	14,41±5,20		7,98±3,54
		p<0,001	
dist. Jej.	6,67±3,88		6,36±2,75

Seröser Leucintransfer in µM/100 mg Darmtrockengewicht

	HP	(n=15)	NP
prox. Jej.	13,31±6,37		6,61±4,94
		p<0,01	
mittl. Jej.	16,11±6,44		8,56±3,85
		p<0,001	
dist. Jej.	8,86±6,03		8,30±3,81

Für das muköse Medium war nur ein geringfügiger Konzentrationsabfall zu verzeichnen. Die Gruppenunterschiede sind daher relativ klein. Es ist dabei jedoch zu bedenken, daß das Volumen des mukösen Mediums

(20 ml) bei Inkubationsbeginn 20 mal größer war als das Volumen des serösen Mediums (1 ml).

Gruppenunterschiede ergaben sich auch für die weiteren Transportparameter, nämlich für die Leucinkonzentrationsdifferenz (S-M) und die Leucinkonzentrationsgradienten (S/M) zwischen serösen und mukösen Medium. Für beide Größen sind die Gruppenunterschiede im proximalen und mittleren Jejunum gesichert, während für das distale Jejunum keine Unterschiede zu registrieren waren.

Aus Tabelle 10 wird der seröse Leucintransfer pro Darmsack und pro 100 mg Darmtrockengewicht ersichtlich. Als seröser Transfer wird dabei die Mengenzunahme an L-Leucin im serösen Kompartiment der Darmsäcke während der Inkubation verstanden. Signifikante Gruppenunterschiede zwischen Gruppe HP und Gruppe NP ergaben sich ebenfalls nur für das proximale und mittlere Jejunum. Gesicherte Unterschiede bezüglich des L-Leucintransfers zwischen einzelnen Dünndarmabschnitten sind nur bei Gruppe HP nachzuweisen. So wurde vom mittleren Jejunum signifikant mehr L-Leucin transportiert als vom distalen Jejunum.

Bei der Kontrollgruppe NP konnten keine nennenswerten Unterschiede bezüglich des serösen Leucintransfers in den untersuchten Dünndarmabschnitten gefunden werden.

b.) Versuch 2

Versuchsziel: In dieser Versuchsreihe sollten in Ergänzung zu Versuch 1 weitere Dünndarmabschnitte auf ihre Transportkapazität geprüft werden. Dazu wurden das Duodenum (1 cm distal vom Pylorus bis zum Ende des Ligamentum duodenocolicum 104), das mittlere Jejunum, und das Ileum (vom Beginn des Ligamentum ileocaecale bis zum Ostium ileocaecale 104) untersucht. Außerdem sollte gezeigt werden, wie sich die Anwesenheit von Glukose im Inkubationsmedium auf den Leucintransport in unterschiedlichen Dünndarmabschnitten auswirkt, da Glukose vom Dünndarmepithel des Duodenums und Jejunums im Gegensatz zum Ileum in erheblichen Maße metabolisiert wird.

Versuchsanordnung: 60 männliche Sprague-Dawley-Ratten wurden in zwei etwa gewichtsgleiche Gruppen eingeteilt. Wie schon in Versuch 1 wurde der einen Gruppe (HP) für ca 2 Wochen die HP-Diät, der anderen Gruppe (NP)

die NP-Diät zur ad libitum-Aufnahme angeboten. Das Durchschnittsgewicht bei der Aufstallung lag bei 190 g (Gruppe HP) und 189 g (Gruppe NP). Der durchschnittliche Futterverzehr pro Tier und Tag belief sich bei Gruppe HP auf 16,2 bei Gruppe NP auf 19,7 g. Am Ende der Fütterungsperiode betrug das Durchschnittsgewicht 233 g (Gruppe HP) bzw. 249 g (Gruppe NP). An einem Versuchstag wurden 6 HP- und 6 NP-Tiere getötet. Pro Tier wurden jeweils zwei Darmabschnitte untersucht. Als in vitro Präparation diente abermals der umgestülpte Darmsack (Länge 8 cm).

Für die Inkubation der Därme von jeweils 3 Tieren pro Gruppe enthielt das Inkubationsmedium lediglich ^{14}C-markiertes Leucin in einer Konzentration von 5 mM/l. Für die Inkubation der Därme der restlichen 6 Tiere (3 HP-, 3 NP-Tiere) wurde dem Inkubationsmedium zusätzlich 300 mg Glukose pro 100 ml zugefügt. Pro Tag wurden somit 24 Darmsäcke (4 HP- und 4 NP-Darmsäcke pro Darmabschnitt) untersucht.

Versuchsergebnisse: Tabelle 11 enthält die Darmtrockengewichte der inkubierten Därme sowie die Volumina des serösen Mediums nach Beendigung der Inkubation. Für die Darmtrockengewichte und die Volumina des serösen Mediums ergaben sich keine deutlichen Unterschiede. Auffallend ist jedoch der höhere Wassertransfer in das seröse Kompartiment der Darmsäcke bei Anwesenheit von Glukose im Inkubationsmedium. Dies gilt insbesondere für das mittlere Jejunum und das Duodenum. Dieser Befund bestätigt Ergebnisse verschiedener Autoren (2, 74 - 76, 96, 99).

In Tabelle 12 sind die Leucinkonzentrationsveränderungen des serösen und muköse Mediums während der Inkubation angegeben. Unter beiden Inkubationsbedingungen ergaben sich bezüglich der Leucinkonzentration im serösen Medium für das Duodenum und Jejunum gesicherte Gruppenunterschiede (HP - NP). Für das Ileum trifft dies nicht zu. Analoges gilt auch für das muköse Medium. Generell wurden bei Gruppe HP für das Jejunum höhere Werte gefunden als für die übrigen beiden Darmabschnitte. Bei Gruppe NP war dies nicht der Fall.

Weiterhin waren bei Anwesenheit von Glukose im Inkubationsmedium für die Leucinkonzentration des serösen Mediums geringfügig niedrigere Werte zu beobachten. Dies dürfte mit den für das Volumen des serösen Mediums erhaltenen geringgradig höheren Werten zusammenhängen.

Tabelle 11

Darmtrockengewichte und Volumina des serösen Mediums umgestülpter HP- und NP-Dünndarmsäcke nach Inkubationsende (Duodenum, mittl. Jejunum, Ileum)

Darmtrockengewichte in mg

	glukosehaltiges Ink.-Medium		glukosefreies Ink.-Medium	
	HP n=10	NP	HP n=10	NP
Duod.	128,9±31,3	137,6±30,0	130,5±28,4	113,5±20,1
mittl. Jej.	93,4±16,3	104,0±15,0	86,7±11,2	100,8±13,7
Ileum	90,5±26,0	101,1±22,6	92,6±14,0	86,4±18,0

Volumina des serösen Mediums in ml[1)]

	glukosehaltiges Ink.-Medium		glukosefreies Ink.-Medium	
	HP n=10	NP	HP n=10	NP
Duod.	1,22±0,12[a)]	1,12±0,15	1,04±0,19[a)]	1,03±0,13
mittl. Jej.	1,22±0,18[b)]	1,18±0,15[c)]	1,04±0,12[b)]	1,03±0,11[c)]
Ileum	1,14±0,17	1,06±0,14	1,05±0,15	1,06±0,23

1) Das Volumen des serösen Mediums betrug bei Inkubationsbeginn 1 ml. Das Inkubationsmedium enthielt generell 5 mM/l L-Leucin.

a) b) c) Die mit gleichen Buchstaben versehenen Werte unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$) voneinander.

Tabelle 12

Leucinkonzentrationen des serösen und mukösen Mediums umgestülpter HP- und NP-Dünndarmsäcke nach Inkubationsende.[1)]
(Duodenum, mittl. Jejunum, Ileum)

(S) Seröses Medium (mM/l)

	glukosehaltiges Ink.-Medium		glukosefreies Ink.-Medium	
	HP (n=10)	NP	HP (n=10)	NP
Duod.	8,59±1,31	7,21±0,94	10,46±0,84	9,01±1,03
	p<0,05		p<0,01	
mittl. Jej.	10,61±1,98	7,45±1,27	11,70±2,12	8,26±0,77
	p<0,001		p<0,001	
Ileum	8,32±1,30	7,29±1,29	9,62±1,79	9,30±2,01

(M) Muköses Medium (mM/l)

	glukosehaltiges Ink.-Medium		glukosefreies Ink.-Medium	
	HP (n=10)	NP	HP (n=10)	NP
Duod.	4,24±0,24	4,47±0,27	3,95±0,53	4,33±0,18
			p<0,05	
mittl. Jej.	4,16±0,28	4,57±0,33	4,23±0,22	4,60±0,18
	p<0,01		p<0,001	
Ileum	4,60±0,29	4,66±0,20	4,48±0,33	4,53±0,34

1) Die Konzentration bei Inkubationsbeginn betrug 5 mM/l L-Leucin.

Tabelle 13

Leucinkonzentrationsdifferenzen (S-M) und Leucinkonzentrationsgradienten (S/M) zwischen serösen und mukösen Medium umgestülpter HP- und NP-Dünndarmsäcke[1] (Duodenum, mittl. Jejunum, Ileum).

(S-M) Leucinkonzentrationsdifferenzen (mM/l)

	glukosehaltiges Ink.-Medium			glukosefreies Ink.-Medium		
	HP	(n=10)	NP	HP	(n=10)	NP
Duod.	4,35±1,48		2,64±1,20	6,14±1,62		4,68±1,13
		p<0,05			p<0,05	
mittl. Jej.	6,45±2,23		2,88±1,53	7,47±2,30		4,10±1,69
		p<0,001			p<0,01	
Ileum	3,61±1,45		2,63±1,45	4,98±2,14		4,77±2,31

(S/M) Leucinkonzentrationsgradienten

	glukosehaltiges Ink.-Medium			glukosefreies Ink.-Medium		
	HP	(n=10)	NP	HP	(n=10)	NP
Duod.	2,03±0,40		1,72±0,43	2,64±0,61		2,08±0,29
					p<0,05	
mittl. Jej.	2,55±0,63		1,64±0,38	2,78±0,63		1,89±0,40
		p<0,001			p<0,01	
Ileum	1,82±0,39		1,66±0,42	2,16±0,53		2,06±0,58

1) Die Konzentration bei Inkubationsbeginn betrug 5 mM/l L-Leucin.

Tabelle 14

Seröser Leucintransfer umgestülpter HP- und NP-Dünndarmsäcke pro Darmsack und pro 100 mg Darmtrockengewicht.
(Duodenum, mittl. Jejunum, Ileum)

Seröser Leucintransfer in µM/Darmsack

	glukosehaltiges Ink.-Medium			glukosefreies Ink.-Medium		
	HP	(n=10)	NP	HP	(n=10)	NP
Duod.	5,56±2,15		3,21±2,18	5,76±2,96		4,25±1,50
		p<0,05				
mittl. Jej.	8,24±3,96		3,96±2,61	7,26±3,13		3,97±1,60
		p<0,05			p<0,01	
Ileum	4,66±2,81		2,85±2,25	5,23±2,92		5,13±3,74

Seröser Leucintransfer in µM/100 mg Darmtrockengewicht

	glukosehaltiges Ink.-Medium			glukosefreies Ink.-Medium		
	HP	(n=10)	NP	HP	(n=10)	NP
Duod.	5,01±3,83		3,31±2,87	4,66±2,66		3,91±1,79
mittl. Jej.	8,85±4,04		3,93±2,92	8,54±3,66		3,97±1,74
		p<0,01			p<0,01	
Ileum	5,36±3,06		2,68±2,15	5,59±3,03		5,58±3,75
		p<0,05				

Das Inkubationsmedium enthielt generell 5mM/l L-Leucin

Wie schon in Versuch 1 scheint also ein beschleunigter Leucintransport für Gruppe HP im Vergleich zu der Kontrollgruppe NP vorzuliegen, Wiederum weist das mittlere Jejunum zumindest bei Gruppe HP die höchste Leucinkonzentrationszunahme auf. Für die in Tabelle 13 angegebenen weiteren Transportparameter, nämlich der Leucinkonzentrationsdifferenzen (S-M) und der Leucinkonzentrationsgradienten (S/M) ergibt sich ein ähnliches Bild, zumal diese Bezugsgrößen von den in Tabelle 12 aufgeführten abhängig sind.

In Tabelle 14 ist der seröse Leucintransfer pro Darmsack und pro 100 mg Darmtrockengewicht angegeben. Auf diese Parameter wirkte sich die Anwesenheit von Glukose im Inkubationsmedium nicht aus. Auf eine nähere Erläuterung des Transfers unter beiden Inkubationsbedingungen kann daher verzichtet werden.

Die Unterschiede zwischen Gruppe HP und Gruppe NP treten für den serösen Leucintransfer im mittleren Jejunum am deutlichsten in Erscheinung. So wies bei Gruppe HP das Jejunum den höchsten Leucintransfer auf, gefolgt vom Duodenum und Ileum. Bei Gruppe NP differierten die Leucintransferraten in den verschiedenen Dünndarmabschnitten nicht nennenswert.

Die in diesem Versuch erhaltenen Ergebnisse stimmen somit mit den im 1. Versuch erhobenen Befunden im wesentlichen überein. Allerdings ergaben sich im 1. Versuch für die einzelnen Transportparameter generell höhere Werte. Dies hängt möglicherweise mit den Gewichtsunterschieden der verwendeten Versuchstiere zusammen.

c.) Versuch 3

Versuchsziel: Wie im Literaturteil ausführlich erörtert (s.S. 3,6), besteht für den intestinalen Aminosäurentransport eine Abhängigkeit von der Aminosäurenkonzentration. Diese Beziehung ist allerdings nicht linear; vielmehr erreicht der Aminosäurentransport bei einer bestimmten Aminosäurenkonzentration einen Maximalwert ($V_{max.}$).

Ziel des nachfolgend beschriebenen Versuches war die Klärung der Frage, ob HP-Fütterung gegenüber NP-Fütterung bezüglich des intestinalen Aminosäurentransports zu einer Veränderung von $V_{max.}$ führt.

Versuchsanordnung: Jeweils 20 Tiere erhielten zwei bis drei Wochen entweder eine HP oder eine NP-Diät. Das Durchschnittsgewicht der Tiere betrug zu Beginn der Verfütterung der Versuchsdiäten 331 g (Gruppe HP) bzw. 329 g (Gruppe NP). Der durchschnittliche tägliche Futterverzehr pro Tier lag bei der HP-Gruppe bei 13,2 g, bei Gruppe NP bei 13,9 g. Während der Fütterungsperiode stieg das Gewicht der HP-Tiere auf 341 g, jenes der NP-Tiere auf 340 g an.

In Abänderung zu den vorhergehenden Versuchen wurde die Leucinkonzentration des Inkubationsmediums variiert. (1, 3, 5, 10 mM/l). Die Inkubationszeit betrug in Anlehnung an entsprechende Versuche von Larsen et al. (22) 90 Minuten. Auf die Zugabe von D-Glukose zum Inkubationsmedium wurde verzichtet, da glukosehaltiges Medium im Vergleich zu glukosefreiem Medium im 2. Versuch keinen Anstieg des intestinalen Aminosäurentransports ergab. Pro Versuchstag wurden jeweils 8 HP und 8 NP Tiere getötet. Für die Untersuchungen wurde das mittlere Jejunum verwendet (104). Die Transportparameter entsprachen denen der vorhergehenden Versuche. Zusätzlich wurde die Akkumulation von L-Leucin in der Darmwand geprüft.

Versuchsergebnisse: In Tabelle 15 sind die Darmtrockengewichte und die Volumina des serösen Mediums nach Inkubationsende angegeben. Für beide Bezugsgrößen ergaben sich keine Gruppenunterschiede (HP - NP). Ebensowenig ist eine Abhängigkeit des Volumens des serösen Mediums nach Beendigung der Inkubation von der L-Leucinkonzentration des Inkubationsmediums zu erkennen.

In Tabelle 16 sind die Werte für die Parameter des Leucintransports zusammengestellt. Für alle diese Bezugsgrößen waren für Gruppe HP höhere Werte als für Gruppe NP zu verzeichnen. Die in diesem Versuch gegenüber

den vorhergehenden Untersuchungen erhaltenen geringeren Gruppenunterschiede (HP - NP) sind möglicherweise auf das höhere Alter der für diesen Versuch verwendeten Ratten zurückzuführen. Trotzdem war die Gesamtheit aller bei den HP-Darmsäcken für den serösen L-Leucintransfer ermittelten Werte signifikant größer als die Gesamtheit der für Gruppe NP erhaltenen entsprechenden Werte ($p < 0,01$; Varianzanalyse).

Zur besseren Veranschaulichung der Ergebnisse, ist in Abbildung 1 der seröse Leucintransfer in Abhängigkeit von der Leucinkonzentration des mukösen Mediums dargestellt. Bei Betrachtung dieser Abbildung und der Tabelle 17 fällt auf, daß der entgegen einem Konzentrationsgefälle erfolgende L-Leucintransport bei Erhöhung der Leucinkonzentration des Inkubationsmediums nicht linear ansteigt, sondern eine Sättigungskinetik vom Michaelis-Menten-Typ (54 - 57) aufweist. Proteinreiche Fütterung führt offensichtlich zu einer Erhöhung der maximalen Transportkapazität für L-Leucin. Eine Sättigung des Transportsystems scheint bereits bei einer L-Leucinkonzentration von 5 bis 10 mM/l aufzutreten.

Tabelle 15

Volumen des serösen Mediums sowie Trockengewichte evertierter HP- und NP-Dünndarmsäcke nach Inkubationsende (mittl. Jejunum).

Volumen des serösen Mediums (ml)

Leucinkonz. zu Inkubationsbeginn	Inkubationsbeginn HP (ml) NP	Inkubationsende HP (ml) NP
1 mM/l (n=5)	1,00	1,08±0,06 1,11±0,06
3 mM/l (n=5)	1,00	1,15±0,10 1,07±0,05
5 mM/l (n=5)	1,00	1,14±0,06 1,10±0,07
10 mM/l (n=5)	1,00	1,19±0,10 1,09±0,07

Darmtrockengewichte (mg)

Leucinkonz. zu Inkubationsbeginn	HP (mg)	NP (mg)
1 mM/l (n=5)	79,2±8,4	73,3±10,1
3 mM/l (n=5)	78,8±6,9	78,2±13,2
5 mM/l (n=5)	74,6±7,0	67,4±7,7
10 mM/l (n=5)	72,6±9,3	75,5±7,2

Tabelle 16

Leucinkonzentrationen im serösen (S) und mukösen(M) Medium; Konzentrationsdifferenzen (S-M) sowie Konzentrationsgradienten (S/M) zwischen serösen und mukösen Medium umgestülpter HP- und NP-Dünndarmsäcke nach Inkubationsende (mittl. Jejunum).

Gruppe HP (n=5)

Leucinkonz.[1] bei Inkubationsbeginn mM/l	1	3	5	10
bei Inkubationsende				
seröses M.(S)	6,6 ±0,6	11,8±1,3	14,7±1,4	19,6±0,5
muköses M.(M)	0,47±0,04	1,9±0,2	3,9±0,02	8,8±0,5
Konz.Diff.(S-M)	6,1 ±0,6	9,9±1,3	10,7±1,4	10,8±2,2
Konz.Grad.(S/M)	14,0 ±1,8	6,1±0,7	3,7±0,3	2,2±0,3

Gruppe NP (n=5)

Konz.bei Ink.-Beginn mM/l	1	3	5	10
bei Ink.-Ende				
seröses M.(S)	5,6 ±1,2	10,6±2,7	12,4±3,2	17,8±1,4
muköses M.(M)	0,54±0,10	2,2±0,2	4,1±0,7	8,9±1,3
Konz.Diff.(S-M)	5,0 ±1,3	8,4±2,8	8,3±3,5	8,8±2,0
Konz.Grad.(S/M)	10,8±3,4	5,0±1,6	3,2±1,0	2,0±0,4

1) Alle Konzentrationsangaben in mM/l.

Tabelle 17

Seröser L-Leucintransfer pro Darmsack und pro 100 mg Darmtrockengewicht, sowie L-Leucinakkumulation in der Darmwand umgestülpter HP- und NP-Dünndarmsäcke in Abhängigkeit von der Leucinkonzentration im Inkubationsmedium (mittl. Jejunum).

Gruppe HP (n=5)

Konz.[1] bei Ink.-Beginn	1	3	5	10
Transfer[2] pro Darmsack	6,1±0,5	10,7±2,2	11,8±2,3	13,2±4,4
Transfer[2] pro 100 mg Trockengew.	7,8±1,3	13,6±2,9	16.0±4,0	18,5±6,8
Leucinakk.[2] pro 100 mg Trockengew.	10,7±1,4	21,3±2,3	24,2±5,9	33,2±7,1

Gruppe NP (n=5)

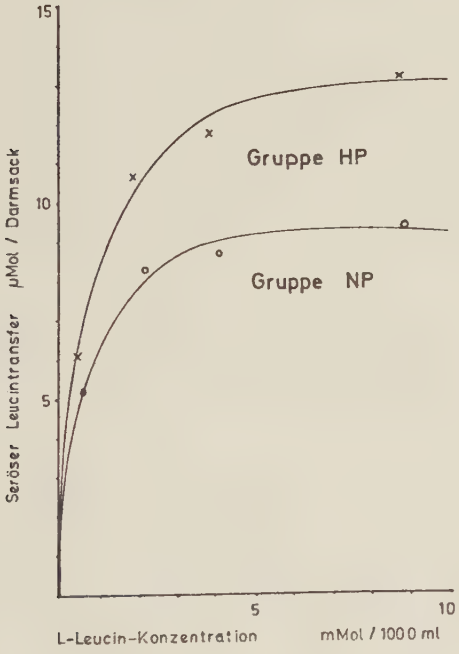
Konz.[1] bei Ink.-Beginn	1	3	5	10
Transfer[2] pro Darmsack	5,2±1,4	8,3±3,2	8,7±4,1	9,4±2,3
Transfer[2] pro 100 mg Trockengew.	7,1±1,8	10,4±3,2	12,8±5,7	12,7±3,7
Leucinakk.[2] pro 100 mg Trockengew.	10,7±2,6	19,6±2,8	19,6±4,5	28,0±3,4

1) Konzentration zu Inkubationsbeginn 1, 3, 5, 10 mM/l L-Leucin

2) Transfer sowie Akkumulation sind in µM angegeben.

Abbildung 1

Abhängigkeit des serösen Leucintransfers evertierter HP- und NP-Dünndarmsäcke von der Leucinkonzentration des Inkubationsmediums.



Wie aus der Abbildung ferner ersichtlich, scheint bei Gruppe HP gegenüber Gruppe NP die Michaeliskonstante (K_m) des intestinalen Leucintransports (= Leucinkonzentration des Inkubationsmediums, bei der der Leucintransport den halbmaximalen Wert erreicht) nicht verändert zu sein. Für eine genaue Bestimmung der Michaelis-Konstante wären jedoch mehr Meßpunkte erforderlich.

D.) DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Aus den Ergebnissen des 1. und 2. Versuches geht hervor, daß proteinreiche Ernährung vor allem im proximalen und mittleren Jejunum zu einer deutlichen Stimulierung des aktiven intestinalen Aminosäurentransports führt. Im distalen Jejunum und Ileum hingegen manifestierte sich dieser Effekt kaum. Das Duodenum nimmt diesbezüglich eine Mittelstellung ein.

Nach Befunden von Parkins et al. (94) sowie Mettrick (101) wird der Nahrungsproteinstickstoff nach oraler Proteinzufuhr bei der Ratte hauptsächlich in der proximalen Hälfte des Dünndarms resorbiert. Ähnliche Befunde wurden auch am Menschen erhoben (78 - 80, 100). Damit mag es zusammenhängen, daß sich in unseren Versuchen proteinreiche Ernährung vor allem auf den Aminosäurentransport des proximalen und mittleren Jejunums auswirkte. Das mittlere Jejunum wies zudem in unseren Versuchen im Vergleich zu den übrigen untersuchten Dünndarmabschnitten bei den proteinreich ernährten Tieren (Gruppe HP) die höchste Transportkapazität für L-Leucin auf. Für die proteinarm ernährten Tiere (Gruppe NP) dagegen ergaben sich keine deutlichen Unterschiede zwischen den einzelnen Dünndarmabschnitten.

Nach Untersuchungen mehrerer Autoren (13, 20, 22, 32, 54, 58, 84) am isolierten Rattendarm soll die distale Hälfte des Jejunums die Höchste Transportkapazität für basische und neutrale Aminosäuren aufweisen. In diesen Versuchen erhielten die Versuchstiere jedoch handelsübliches Rattenfutter mit normalen Proteingehalt, sodaß ein direkter Vergleich mit unseren Ergebnissen nicht möglich ist. Allenfalls können die für die Gruppe NP für den Aminosäurentransport in verschiedenen Dünndarmabschnitten erhaltenen Werte mit den von anderen Autoren erhobenen diesbezüglichen Befunden verglichen werden. Tatsächlich ergaben sich auch zumindest im 1. Versuch für die NP Tiere für das mittlere und distale Jejunum hinsichtlich des intestinalen Leucintransports etwas höhere Werte als für das proximale Jejunum. Im 2. Versuch dagegen konnten bei Gruppe NP keine deutlichen diesbezüglichen Unterschiede zwischen den einzelnen Dünndarmabschnitten gefunden werden. Möglicherweise hängt dies mit den im 2. Versuch im Vergleich zum 1. Versuch erhaltenen generell niedrigeren Werten für die Leucintransportparameter zusammen.

Im 2. Versuch wurde zusätzlich der Einfluß von Glukose im Inkubationsmedium auf den intestinalen L-Leucintransport geprüft. Die Anwesenheit von Glukose im Inkubationsmedium wirkte sich dabei weder bei Gruppe HP noch bei Gruppe NP in keinem der untersuchten Dünndarmabschnitte auf den L-Leucintransport aus. Dies deckt sich mit Befunden anderer Autoren (71, 73 - 77, 96, 105), die jedoch jeweils hauptsächlich am Jejunum erhoben wurden. Lediglich der Wassertransfer in das seröse Kompartiment der Darmsäcke wurde durch die Anwesenheit von Glukose im Inkubationsmedium stimuliert. Dies gilt vor allem für das Duodenum und Jejunum. Im Ileum war dieser Effekt weniger deutlich. Wahrscheinlich ist dies darauf zurückzuführen, daß eine Resorption von Glukose im Ileum sehr viel weniger stattfindet als im Duodenum und Jejunum (97, 98, 103). Auch andere Autoren beobachteten nach Zugabe von metabolisierbaren Monosacchariden zum Inkubationsmedium an evertierten Dünndarmsäcken (hauptsächlich Jejunum der Ratte) eine Stimulierung des Wassertransfers (2, 74 - 77, 96, 99).

Im 3. Versuch wurde der Leucintransport in Abhängigkeit von der L-Leucinkonzentration im Inkubationsmedium (1, 3, 5, 10 mM/l) untersucht. Dabei stellte sich heraus, daß im Konzentrationsbereich von 5 bis 10 mM/l-L-Leucin ein Maximalwert für den L-Leucintransport erreicht wurde. Dieser Wert ($V_{max.}$) lag bei Gruppe HP deutlich höher als bei Gruppe NP. Offensichtlich führt somit proteinreiche Ernährung zu einer Erhöhung der Maximaltransportkapazität für L-Leucin. Anhaltspunkte für eine Veränderung der Michaeliskonstante des L-Leucintransports ergaben sich in diesem Versuch nicht. Proteinreiche Ernährung scheint somit die Affinität des Transportsystems der neutralen Aminosäuren gegenüber L-Leucin nicht zu verändern.

E.) ZUSAMMENFASSUNG

In zwei Versuchsserien wurde untersucht, wie sich eine 2-3wöchige proteinreiche (Gruppe HP, 73,5 % Protein im Futter) im Vergleich zu proteinarmer (kohlehydratreicher) Ernährung (Gruppe NP, 11 % Protein im Futter) auf den intestinalen L-Leucintransport unterschiedlicher Dünndarmabschnitte der Ratte auswirkt.

Folgende Dünndarmabschnitte wurden in die Untersuchungen einbezogen:
1. Versuchsserie: proximales, mittleres und distales Jejunum;
2. Versuchsserie: Duodenum, mittleres Jejunum, Ileum. Alle Experimente wurden in vitro an umgestülpten Dünndarmsäcken durchgeführt (L-Leucinkonzentration des Inkubationsmediums: 5 mM/l). Wir erhielten folgende Ergebnisse:

1.) HP-Fütterung hatte gegenüber NP-Fütterung im proximalen und mittleren Jejunum eine maximale Stimulierung des L-Leucintransports zur Folge.

2.) Im distalen Jejunum und Ileum ergaben sich hinsichtlich des L-Leucintransports keine deutlichen Unterschiede zwischen Gruppe HP und Gruppe NP.

3.) Das Duodenum nimmt bezüglich des L-Leucintransports eine Mittelstellung zwischen der proximalen Hälfte des Jejunums und dem distalen Jejunum bzw. Ileum ein.

4.) Für das mittlere Jejunum war bei Gruppe HP im Vergleich zu den übrigen untersuchten Dünndarmabschnitten ein deutlich höherer L-Leucintransport zu verzeichnen.

5.) Die Anwesenheit von Glukose (300 mg/100 ml) im Inkubationsmedium wirkte sich weder bei Gruppe HP noch bei Gruppe NP auf den intestinalen Leucintransport aus (2. Versuchsserie). Lediglich der Wassertransfer in das seröse Kompartiment der Darmsäcke wurde bei beiden Gruppen im Duodenum und mittleren Jejunum, nicht dagegen im Ileum durch Glukose stimuliert.

In einer weiteren Versuchsserie wurde die L-Leucinkonzentration des Inkubationsmediums variiert (1, 3, 5, 10 mM/l). Bereits bei einer L-Leucinkonzentration von 5 - 10 mM/l wurde sowohl bei Gruppe HP als auch bei Gruppe NP der Maximalwert ($V_{max.}$) für den L-Leucintransport erreicht. $V_{max.}$ war dabei bei Gruppe HP deutlich höher als bei Gruppe NP.

SUMMARY

In two series of experiments it was investigated, whether feeding a diet rich in protein (group HP; 73,5 % protein) compared to a low protein diet, rich in carbohydrates (group NP; 11 % protein) influences intestinal L-leucine transport at different sites of rat small intestine. The following sites of the small intestine were examined: experimental series 1: upper jejunum, mid-jejunum, lower jejunum; experimental series 2: duodenum, mid-jejunum, ileum. All experiments were carried out in vitro using everted intestinal sacs (L-leucine concentration of the incubation medium 5 mM/l). The following results were obtained:

1.) HP-diet compared to NP-diet caused a maximum stimulation of L-leucine transport in the upper jejunum and mid-jejunum.
2.) In the lower jejunum and ileum there were no marked differences between group HP and NP.
3.) Differences between both groups were somewhat smaller in the duodenum than in the upper half of the jejunum.
4.) Compared to the other sites of the small intestine the transport values obtained for the mid-jejunum were markedly higher in group HP. This was not the case for group NP.
5.) In both groups intestinal transport of L-leucine was not affected by the presence of glucose in the incubation medium (experimental series 2). However, in both groups water transfer into the serosal compartment of the everted sacs of the duodenum and mid-jejunum in contrast to the ileum was stimulated by glucose.

In a further series of experiments the concentration of L-leucine in the incubation medium was varied (1, 3, 5, 10 mM/l). Both in group HP and NP at a L-leucine concentration of 5 - 10 mM/l the maximum of L-leucine transport ($V_{max.}$) was obtained. Compared to group NP $V_{max.}$ was markedly higher in group HP.

F.) L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. Scharrer,E.
Nahrungszusammensetzung und Aminosäurenresorption. Wissenschaftliche Zeitschrift der Universität Rostock, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Reihe, 18, (1969).

2. Scharrer, E.
Ernährungsbedingte adaptive Veränderungen der intestinalen Aminosäurenresorption. Habilitationsschrift 1971.

3. Scharrer,E., H. Zucker
Untersuchungen über den Verzehrsrückgang bei proteinreicher Ernährung. III. Veränderungen der Aminosäurenresorptionsgeschwindigkeit durch Adaptation an eiweißreiche Ernährung. Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelkde. 23, 169, (1967).

4. Scharrer, E., J. Brüggemann
In vitro Studien zur Aminosäurenresorption. I. Untersuchungen an umgestülpten Dünndarmsäcken unterschiedlich vorgefütterter Ratten. Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelkde., 27, 327, (1971).

5. Höber, R., J. Höber$
Experiments on the absorption of organic solutes in the small intestine of rats. J. Cell. Comp. Physiol. 10, 401, (1937).

6. Lathe, G.H.
The effect of the concentration of different amino acids in the intestinal contents on their absorption from the small intestine. Rev. Canad. Biol., 2, 134, (1943).

7. Gibson, Q., H., G. Wiseman
Selective absorption of stereo isomers of amino acids from loops of the small intestine of the rat. Biochem.J. 48, 426,(1951).

8. Reiser, S., Christiansen P.A.
The properties of the preferential uptake of L-leucine by isolated intestinal epithelial cells. Biochim., Biophys. Acta 225, 123 - 139, (1971).

9. Wilson, T.H., and G.Wiseman
The use of sacs of everted small intestine for the study of the transference of substances from mucosal to serosal surfaces. J. Physiol. 123, 116, (1954).

10. Wiseman,G.
Preferential transference of amino-acids from amino-acids mixtures by sacs of everted small intestine of the golden hamster (Mesocricetus auratus). J. Physiol. 124, 414, (1955).

11. Wiseman, G.
Active transport of amino acids by sacs of everted small intestine of the golden hamster. J.Physiol. 133, 626, (1956).

12. Neil, M.W.
The absorption of cystine and cysteine from rat small intestine. Biochem. Journal 71, 118, (1959).

13. Lin, E. C.C. und T.H. Wilson
Transport of L-tyrosine by the small intestine in vitro. Am. J. Physiol. 199, 127, (1960).

14. Spencer R.P. und A.H. Samiy
Intestinal transport of L-tryptophan in vitro. Inhibitions by high concentrations. Am. J. Physiol. 199, 1033, (1960).

15. Hagihira H., T.H. Wilson, E.C.C. Lin
Intestinal transport of certain N-substituted amino acids. Am. J. Physiol. 203, 637, (1962).

16. Cori C.F.
The absorption of glycine and D-, L-alanine. Proc. Soc. Exptl. Biol. 24, 125, (1926).

17. Agar W.T., F.J.R. Hird, G.S. Sidhu
The absorption, transfer and uptake of amino acids by intestinal tissue. Biochim. Biophys. Acta 22, 21, (1956).

18. Hird, F.J.R. and G.S. Sidhu
Absorption of amino acids by twin loops of rat intestine. Biochim. Biophys. Acta 25, 388, (1957).

19. Finch L.R. and F.J.R. Hird
The uptake of amino acids by isolated segments of rat intestine. II. A survey of factors affecting the measurement of uptake. Biochim. Biophys. Acta 43, 268, (1960).

20. Spencer R.P. and A.H. Samiy
Intestinal absorption of L-phenylalanine in vitro. Am. J. Physiol. 200, 501, (1961).

21. Hagihira H., M. Ogata
Intestinal absorption of amino acids. III. Interference between amino acids during intestinal absorption. J. Biochem. 47, 139, (1960).

22. Larsen R.R., J.E. Ross and D.F. Tapley
Transport of neutral, dibasic and N-methyl-substituted amino acids by rat intestine. Biochim. Biophys. Acta 88, 570, (1964).

23. Matthews D.M., L. Laster
Competition for intestine transport among five neutral amino acids. Am. J. Physiol. 208, 601, (1965).

24. Reiser S. and P.A. Christiansen
Intestinal transport of amino acids studied with L-valine. Am. J. of Physiol. 208, 914, (1965).

25. Annegers J.H.
Intestinal absorption of amino acids in the dog. Am. J. Physiol. 216, 1, (1969).

26. Hagihira H., E.C.C. Lin, A.H. Samiy, T.H. Wilson
Active transport of lysine, ornithine, arginine, and cystine by the intestine. Biochim. Biophys. Res. Comm. 4, 478, (1961).

27. Robinson J.W.L. and J.P. Felber
A survey of the effect of other amino acids on the absorption of L-arginine and L-lysine by the rat intestine. Gastroenterologica 101, 330, (1964).

28. Robinson J.W.L., J.P. Felber
The absorption of dibasic amino acids by rat intestinal slices. Biochem. Z. 343, 1, (1965).

29. Munck B.G. and S.G. Schultz
Interactions between leucine and lysine transport in rabbit ileum. Biochim. Biophys. Acta 183, 182, (1969).

30. Christensen H.N.
Intestinal absorption with special reference to amino acids. Federation Proc. 21, 37, (1962).

31. Wilson T.H., E.C.C. Lin, B.R. Landau and C.R. Jorgensen
Intestinal transport of sugars and amino acids. Federation Proc. 19, 870, (1960).

32. Nathans D., D.F. Tapley and J.E. Ross
Intestinal transport of aminoacids studied in vitro with L-^{131}J-labelled monojodtyrosine. Biochim. Biophys. Acta 41, 271, (1960).

33. Lin E.C.C., H. Hagihira, T.H. Wilson
Specifity of the transport system for neutral amino acids in the hamster intestine. Am. J. Physiol. 202, 919, (1962).

34. Spencer R.P., J. Weinstein, A. Sussman, T.M. Bow, M.A. Markulis.
Effect of structural analogues on intestinal accumulation of glycine. Am. J. Physiol. 203, 634, (1962).

35. Lerner J. Yankelowitz S., and M.W. Taylor
The intestinal absorption of methionine in chickens provided with permanent Thiry-Vella fistulas. Experientia 25, 689, (1969).

36. Spencer R.P., K.R. Brady
Intestinal transport of cyclic and non-cyclic imino acids. Biochim. Biophys. Acta 88, 400, (1964).

37. Hajjar J.J., Curran P.F.
Characteristics of the amino acid transport system in the mucosal border of rabbit ileum. J. Gen. Physiol. 56, 673, (1970).

38. Spencer R.P., T.M. Bow and M.A. Markulis
Amino group requirement for in vitro intestinal transport of amino acids. Am. J. Physiol. 202, 171, (1962).

39. Fridhandler L., J.H. Quastel
Absorption of amino acids from isolated surviving intestine. Arch. Biochim. Biophys. 56, 424, (1955).

40. Wilson T.H., E.C.C. Lin
Active transport by intestines of fetal and newborn rabbits. Am. J. Physiol. 199, 1030, (1960).

41. Pratt R.M., Terner C.
Development of amino acid transport by the small intestine of the chick embryo. Biochim. Biophys. Acta 225, 113, (1971).

42. Agar W.T., F.J.R. Hird and G.S. Sidhu
The active absorption of amino acids by the intestine. J. Physiol. 121, 255, (1953).

43. Chez R.A., R.R. Palmer, S.G. Schultz and P.F. Curran
Effect of inhibitors on alanine transport in isolated rabbit ileum. J. Gen. Physiol. 50, 2357, (1967).

44. Jakobs F.A., L.J. Coen and R.S.L. Hillman
Influence of pyridoxine, pyridoxal phosphat, deoxypyridoxine and 2, 4, dinitrophenol on methionine absorption. J. Biol. Chem. 235, 1372, (1960).

45. Sugai M., Matsuda J.
Actinomycin D inhibition of intestinal transport of L-histidine and of Vit D action. Experientia 27, 25, (1971).

46. Sugai M., Matsuda J.
The effect of vitamin D on transport of L-histidine by intestine. Biochim. Biophys. Acta 170, 474, (1968).

47. Imami R.H., S. Reiser, P.A. Christiansen
Effects of vitamin E and essential fatty acid deficiences on the intestinal transport of L-valine and α-methyl-D-glucoside in the rat. J. Nutr. 100, 101, (1970).

48. Reiser S., P.A. Christiansen
The properties of the preferential uptake of L-leucine by isolated intestinal epithelial cells. Biochim. Biophys. Acta 225, 123, (1971).

49. Schultz S.G., R.E. Fuisz and P.F. Curran
Amino acid and sugar transport in rabbit ileum. J. Gen. Physiol. 49, 849, (1966).

50. Curran P.F., S.G. Schultz, R.A. Chez and R.F. Fuisz
kinetic relations of the Na-amino acid interaction at the mucosal border of intestine. J.Gen. Physil. 50, 1261, (1967).

51. Hajjar J.J., A.S. Lamont, P.F. Curran
The sodium-alanine interaction in rabbit ileum. Effect of sodium on alanine fluxes. J.Gen. Physiol. 55, 277, (1970).

52. Rubino A., M. Field, H. Shwachman
Dipeptide transport across the intestinal brush border. Pediat. Res. 4, 477, (1970).

53. Alvarado F.
Transport of sugars and amino acids in the intestine; evidence for a common carrier. Science 151, 1010, (1966).

54. Matthews D.M., and L.Laster
Kinetics of intestinal active transport of five neutral amino acids. Am.J. Physiol. 208, 593, (1965).

55. Schedl H.P., J.A. Clifton
Kinetics of L-methionine absorption from the human small intestine. J. Lab. Clin. Med. 62, 1011, (1963).

56. Samiy A.H., R.P. Spencer
Accumulation of L-phenylalanine by segments of small intestine. Am. J. Physiol. 200, 505, (1961).

57. Jervis E.L., D.H. Smyth
The effect of concentrations of amino acids on the rate of absorption from the intestine. J. Physiol. 149, 433, (1959).

58. Reiser S., P.A. Christiansen
A cross inhibition of basic amino acid transport by neutral amino acids, Biochim. Biophys. Acta 183, 611,(1969).

59. Fisher R.B.
Absorption of proteins. Br. Med. Bull 23, 241, (1967).

60. Reiser S., J.F. Fitzgerald, P.A. Christiansen
Kinetics of accelerated intestinal valine transport in 2-day-old rats. Biochim. Biophys. Acta 203, 351, (1970).

61. Kershaw T.G., K.D. Neame, G. Wiseman
The effect of semistarvation on absorption by the rat small intestine in vitro and in vivo. J. Physiol. 152, 182, (1960).

62. Hindmarsh J.T., D. Kilby, D. Ross and G. Wiseman
Further studies on intestinal active transport during semistarvation. J. Physiol. 188, 207 (1967).

63. Pêrês G.M., M. Buclon und D. Carruge
Recherches sur l'absorption intestinale des acides aminês chez le rat. 1. Influence du jeûne sur l'absorption intestinale du glycocolle. C. R. Soc. Biol. 156, 2080, (1962).

64. Levin R.J., H. Newey, H.D. Smyth
The effect of adrenalectomy and fasting on the intestinal function in the rat. J. Physiol. 177, 58, (1965).

65. Madge D.S.
Effect of antibiotics on intestinal absorption in guinea pigs. Comp. Biochem. Physiol. 30, 235, (1969).

66. Newey H., P.A. Sanford, D.H. Smyth
Effects of fasting on intestinal transfer of sugars and amino acids in vitro (rat). J. Physiol. 208, 705, (1970).

67. Donhoffer, S.
Ernährung und Resorption. Pflügers Arch. ges. Physiol. 246, 92, (1942).

68. Ziemlanski D., K. Ciesla, B. Pliszka, A. Szczygiel
Einfluß einer proteinfreien Ernährung auf die spätere Aminosäurenresorption aus Eiweißhydrolisat im Verdauungskanal der Ratte. Die Nahrung 11, 559, (1967).

69. Kirsch R.E., S.J. Saunders and J.F. Bock
Amino acid transport in experimental proteincaloric malnutrition. Am. J. Clin. Nutr. 21, 1302, (1968).

70. Suda M., A. Shimomura
Adaptive increase of intestinal transport of L-amino acids in rats fed on proteins of inferior qualities. Osaka Univ. Med. J. 16, 11, (1964).

71. Newey H., and D.H. Smyth
Effects of sugars on intestinal transfer of amino acids. Nature 202, 400, (1964).

72. Cividanes I., J. Larralde und J. Bello
Acción reciproca de la D-glucosa y la L-glicina en la absorción intestinal. Rev. Españ. Fisiol. 20, 11, (1964).

73. Casey M.G., J.P. Felber
The effect of galactose on phenylalanine transport and its damage to the mucosal cells of the rat intestine. Gastroenterologica 107, 209, (1967).

74. Munck B.G.
Amino acid transport by the small intestine of the rat. Evidence against interactions between sugars and amino acids at the carrier level. Biochim. Biophys. Acta 156, 192, (1968).

75. Bingham J.K., H. Newey and D.H. Smyth
Specifity of the inhibitory effects of sugars on intestinal amino acid transfer. Biochim. Biophys. Acta 120, 314, (1966).

76. Bingham J.K., H. Newey and D.H. Smyth
Interaction of sugars and amino acids in intestinal transfer. Biochim. Biophys. Acta 130, 281, (1966).

77. Reiser S., P.A. Christiansen
Intestinal transport of amino acids as affected by sugars. Am. J. Physiol. 216, 915, (1969).

78. Schedl H.P., C.E. Pierce, A. Rider and J.A. Clifton
Absorption of L-methionine from the human small intestine. J. Clin. Invest. 47, 417, (1968).

79. Nixon S.E., Mawer G.E.
The digestion and absorption of protein in man. The Site of absorption. British J. Nutrition 24, 227, (1970).

80. Borgström B., A. Dahlqist, G. Lundh, J. Sjövall
Studies of intestinal digestion and absorption in the human. J. Clin. Invest. 36, 1521, (1957).

81. Weckesser E.C., J.L. Ankeney, A.F. Portman, J.W. Price and F.A. Cebul
Extensive resection of the small intestine followed by vagatomy. Experimental study of fat and nitrogen excretion on dogs. Surgery 30, 465, (1951).

82. Kremen A.J., J.H. Linner, and C.H. Nelson
An experimental evaluation of the nutritional importance of the proximal and distal small intestine. Am. Surg. 140, 439 - 447, (1954).

83. Elsom K.A., F.W. Chornock and F.G. Dickey
Intubation studies of the human small intestine. 23. A method of determining digestive activity in any portion of the gastro-intestinal tract, with some measurements of protein digestion in the stomach and small intestine. J. Clin. Invest. 21, 795, (1942).

84. Cohen L.L., K.C. Huang
Intestinal transport of tryptophan and its derivates. Am. J. Physiol. 206, 647, (1964).

85. Cordero N., T.H. Wilson
Comparison of transport capacity of small and large intestine. Gastroenterology 41, 500, (1961).

86. Evered D.F., P.B. Nunn
Uptake of amino acids by mucosa of rat colon in vitro. Europ. J. Biochem. 4, 301, (1968).

87. Blatt E.R., D. Schachter
Developmental pattern of some intestinal transport mechanisms in newborn rats and mice. Am. J. Physiol. 216, 1164, (1969).

88. Parkins R.A., A. Dimitriadon, C.C. Booth
The rates and sites of absorption of ^{131}J labelled albumin and sodium ^{131}J in the rat. Clin. Science 19, 395, (1960).

89. Wakita M., S. Hoshino, K. Morimoto
Factors affecting the accumulation of amino acid by the chick intestine. Poultry Sci. 49, 1046, (1970).

90. Nehring K., W. Jentsch, R. Schiemann
Archiv für Tierernährung 11, 233, (1962)

91. Krebs H.A. und K. Henseleit
Untersuchungen über die Harnstoffbildung im Tierkörper. Zeitschrift physiol. Chemie 210, 33, (1932).

92. Spiegel M.R.
Theory and problems of statistics. Schaum Publishing Co.; New York (1961)

93. Bray G.A.
A simple liquid scintillator for counting aqueos solutions in a liquid scintillation counter. Anal. Bioch. 1, 279, (1960).

94. Booth C.C.
Sites of absorption in the small intestine. Fed. Proc. 26, 1583 (1967).

95. Newey H., A.J. Rampone, D.H. Smyth
The relation between L-methionine uptake and sodium in rat small intestine in vitro. J. Physiol. 211, 539, (1970).

96. Parsons D.S.
Salt and water absorption by the intestinal tract. Br. Med. Bull 23, 252, (1967).

97. Magee H.E.
Role of the small intestine in nutrition. Physiol. Revs. 10, 473, (1930).

98. Magee H.E., E. Reich
Absorption of glucose from the alimentary canal. J. Physiol. 73, 63, (1931).

99. Munck B.G.
Amino acid transport by the small intestine of the rat. Effects od glucose on transintestinal transport of proline and valine. Biochim. Biophys. Acta 150, 82, (1968).

100. Nixon S.E., G.E. Mawer
The digestion an absorption of protein in man. The form in which digested protein ist absorbed. Br. J. Nutr. 24, 241, (1970).

101. Mettrick D.F.
Protein nitrogen, amino acid and carbohydrate gradients in the rat intestine. Comp. Biochem. Physiol. Vol. 37, 517, (1970).

102. Nasset E.S., Schwarz P., H.V. Weiss
The digestion of protein in vivo. J. Nutr. 56, 83, (1955).

103. Baker R.D., G.W. Searle, A.S. Nunn
Glucose and sorbose absorption at various levels of rat small intestine. Am. J. Physiol. 200, 301, (1961).

104. Hebel R.
Zur makroskopischen und mikroskopischen Anatomie der Verdauungsorgane der weißen Ratte (rattus norvegicus), einschließlich der Darmanhangsdrüsen und Milz. Säugetierkundliche Mitteilungen 17, 247, (1969).

Nach Beendigung meiner Arbeit möchte ich mich bei Herrn Professor Dr. Dr. Johannes Brüggemann für die Überlassung des Themas und für die großzügig gewährten Arbeitsmöglichkeiten in seinem Institut bedanken.

Ferner gebührt mein Dank Herrn Privatdozenten Dr. Erwin Scharrer, dem wissenschaftlichen Assistenten des Institutes, der mich bei der Durchführung meiner Untersuchungen beraten hat.

LEBENSLAUF

Am 14. September 1943 wurde ich, Wilfrid Herrmann, als Sohn des Oberfeldwebels Hans Herrmann und dessen Ehefrau Auguste, Oberlehrerin, geb. Lauermann, in Altendorf, Landkreis Nabburg geboren.

Von 1949 - 1954 besuchte ich die Volksschule in Altendorf und trat dann in das Albrecht-Altdorfer-Gymnasium in Regensburg über. Im Juni 1965 legte ich an dieser Schule die Reifeprüfung ab und begann im Oktober desselben Jahres an der Universität Erlangen mit dem Studium der Naturwissenschaften.

Mit Beginn des Sommersemesters 1966 wechselte ich das Studienfach und begann das Studium der Veterinärmedizin an der Tierärztlichen Fakultät der Universität München.

Im Februar 1971 schloß ich mein Studium mit dem Staatsexamen ab.

BAMBERGER FOTODRUCK · RUDOLF RODENBUSCH
8600 BAMBERG · Pödeldorferstr. 88 Telefon 0951/31299